

Sari Iivonen, Arja Lilja ja Leo Tervo

Juurilahoa aiheuttavan yksitumaisen *Rhizoctonia*-sienen torjunta kuumavesikäsitteilyllä

Iivonen, S., Lilja, A. & Tervo, L. 1996. Juurilahoa aiheuttavan yksitumaisen *Rhizoctonia*-sienen torjunta kuumavesikäsitteilyllä. Folia Forestalia – Metsätieteen aikakauskirja 1996(1): 51–55.

Työssä tutkittiin juurilahoa aiheuttavan yksitumaisen *Rhizoctonia* sp. -sienen torjuntaa kuumavesikäsitteilyllä. Tavoitteena oli selvittää, mikä lämpötila ja upotusaika on riittävä sienen rihmaston ja kestoasteiden eli rihmastopahkojen tuhoamiseksi. Sienen rihmasto tuhoutui jo 75 °C:n lämpötilassa, ja rihmastopahkoille 80 °C:n lämpötila oli riittävän korkea. Upotusaika ei ollut merkitsevä näissä lämpötiloissa. Sen sijaan alemmissa lämpötiloissa ajalla oli vaikutusta sienen kasvuunlähtöön ja kasvunopeuteen, mutta pisinkään käsitteily ei tuhonnut rihmasto täysin 60 °C:ssa tai rihmastopahkoja 75 °C:ssa. Alle 80 °C:n lämpötiloja voidaan pitää riittämättöminä, kun tavoitteena on taudinaiheuttajan torjunta.

Asiasanat: yksitumainen *Rhizoctonia* sp., juurilaho, kuumavesikäsitteily

Kirjoittajien yhteystiedot: Iivonen ja Tervo, Metsäntutkimuslaitos, Suonenjoen tutkimusasema, 77600 Suonenjoki; Lilja, Metsäntutkimuslaitos, PL 18, 01301 Vantaa. Faksi (979) 513 068, sähköposti sari.iivonen@metla.fi

Hyväksytty 22.4.1996

1 Johdanto

Tautien torjunnassa on tärkeää pitää sekä taimitarha-alue että ympäristö puhtaana taudinaiheuttajista ja tuholaisista. Käyttämällä mm. hyvälaatuista siementä, poistamalla sairaat taimet, pitämällä kasvustot rikkaruohottomina ja kasteluvesi puhtaana parannetaan taimien mahdollisuutta pysyä terveenä (Landis 1990).

Taimitarhoissa taimipoltetta ja juurilahoa aiheuttavat monet maan kautta leviävät *Fusarium*-, *Cylindrocarpon*-, *Phytophthora*-, *Pythium*- ja *Rhizoctonia*-sukuihin kuuluvat sienet (Vaartaja ym. 1956, Vaartaja 1967, Hanioja 1969, Sutherland ym. 1989). Yhdysvalloissa tehdyssä tutkimuksessa havaittiin 96 % käytetyistä taimikennostoista olevan *Fusarium* spp. -sienten saastuttamia ennen laatikoiden pesua, eikä pesu kylmällä vedellä ja kastelu klooripitoisessa liuoksessa puhdistanut kennostoa täydellises-

ti, vaikkakin vähensi sienten määrää (James ym. 1988). Sen sijaan kuuman veden käyttö paransi lopputulosta (James ja Woollen 1989).

Meillä esiintyy eräillä taimitarhoilla kuusen (*Picea abies* (L.) Karst.) ja männyn (*Pinus sylvestris* L.) taimilla sienten aiheuttamaa lahojuuruisuutta. Myös muissa pohjoismaissa (Venn ym. 1986, Beyer-Ericsson ym. 1992) on havaintoja samanlaisesta taudista. Tehdyissä selvityksissä tärkeäksi taudin aiheuttajaksi on leväsienten lisäksi osoittautunut yksitumainen *Rhizoctonia* sp. -sieni. (Venn ym. 1989, Lilja ym. 1992, Lilja 1994). *Rhizoctonia* -sukuun kuuluvat sienet muodostavat rihmastopahkoja, joiden avulla sieni säilyy hengissä pitkään epäsuotuisissa olosuhteissa (Sneh ym. 1991).

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää mikä veden lämpötila ja käsittelyaika tuhoaa *Rhizoctonia* sp. -sienen rihmaston ja rihmastopahkat. Tietoa on tarkoitus hyödyntää kehitettäessä Suomenjoen tutkimusasemalla laitteistoa, joka puhdistaa käytetyt taimikennostot ja kasvatuslaatikot kuumalla vedellä.

2 Materiaali ja menetelmät

Kokeessa testattiin sekä pienten että suurten rihmastopahkojen ja rihmaston kestävyyttä eri pituisissa kuumavesikäsitteilyissä. Käytettävä sienikanta oli eristetty lahojuurisista männyn taimista. Se on testauksissa osoittautunut erittäin patogeeniseksi sekä kuusen että männyn taimille (Lilja 1994). Varastosta oton jälkeen sieni oli kasvanut noin kuukauden ajan PD-agar-alustalla (39g Potato Dextrose Agar, Difco, l⁻¹ H₂O). Kasvustoon muodostuneet rihmastopahkat irrotettiin ja jaettiin kahteen kokoluokkaan läpimitan perusteella (Ø 1,5 mm ja 3 mm). Työt tehtiin steriiliolosuhteissa. Pahkat upotettiin vettäläpäisevässä metalliverkossa steriiliin lämpimään tai kuumaan veteen. Kokeiltavat lämpötilat olivat 30, 45, 60, 75, 80 ja 85 °C. Käsittelyajat olivat 10, 20 ja 30 sekuntia. Kussakin käsitteilyssä oli 18 rihmastopahkaa. Kahdessa korkeimmassa lämpötilassa oli käsitteilyssä kuusi rihmastopahkaa. Upotuksen jälkeen jokainen rihmastopahka siirrettiin omalle vesiagar-alustalle (11 g Bacto

agar, Difco, l⁻¹ H₂O) petrimaljalle (Ø 85 mm). Kontrollina oli käsittelemättömät rihmastopahkat. Kasvustot siirrettiin pimeään ThermoMark-kasvatuskaappiin, jonka lämpötila oli säädetty 21 °C:een (Hietala ym. 1994). Käsitteilyn teho tarkistettiin mitaamalla pahkoista mahdollisesti kehittyvän sienirihmaston säteittäiskasvu (toisiinsa nähden kohtisuorassa olevien akselien läpimittojen keskiarvo) millimetrin tarkkuudella. Mittausajankohdat olivat kolmen, kuuden, kymmenen ja neljäntoista vuorokauden kuluttua upotuksesta.

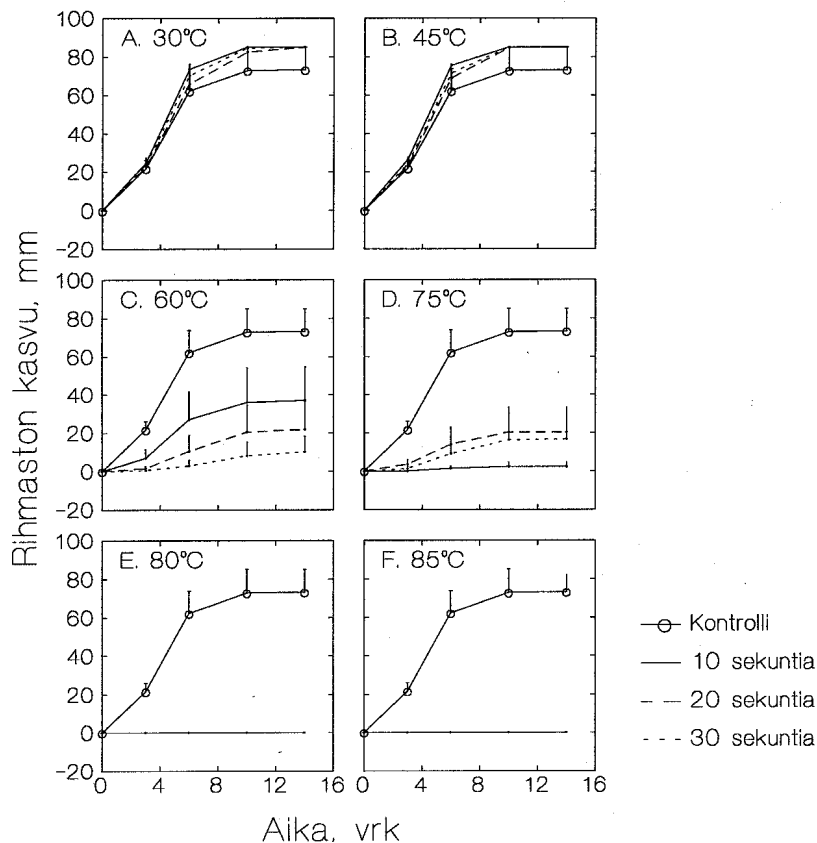
Rihmaston kestävyyttä testattiin samanlaisin upotuskäsittelyin kuin rihmastopahkojenkin kestävyyttä. Ennen käsittelyä sieni oli kasvanut 21 °C:n lämpötilassa vesiagar-alustalla noin kahden viikon ajan. Kasvustoista leikattiin reunaosista 5 × 5 mm:n kokoisia paloja, joissa oli sekä rihmastoa että agar-alustaa. Käsitteilylämpötilat olivat 30, 45, 60 ja 75 °C ja ajat 10, 20 ja 30 sekuntia. Toistoja oli 12. Rihmastopalat laitettiin käsittelyn jälkeen vesiagar-maljoille siten, että yhdelle maljalle tuli kaksi palaa. Kontrollina oli käsittelemättömät rihmastopalat. Sienen kasvua rihmastopaloista seurattiin silmämääräisesti periaatteella 'kasvua/ei kasvua havaittavissa'. Tarkasteluajankohdat olivat samat kuin rihmastopahkojen kohdalla.

Käsittelyjen välisten erojen tilastollista merkittävyyttä tutkittiin kaksisuuntaisella varianssianalyysillä. Mikäli varianssianalyysi osoitti merkitseviä eroja käsittelyjen välillä, jatkettiin analyysia Tukey'n testillä erojen paikallistamiseksi. 80 ja 85 °C:ssa käsitellyjä rihmastopahkoja käsiteltiin testaustilanteessa yhtenä toistona, joka sisälsi kuusi rihmastopahkaa.

3 Tulokset

3.1 Yksitumaisen *Rhizoctonia* sp. -sienen rihmastopahkojen kestävyys

Käsittelylämpötilalla oli vaikutusta rihmastopahkojen kykyyn kasvattaa uutta rihmastoa ($p < 0.001$). 80 ja 85 °C:n lämpötilat näyttivät vaikuttavan sekä isoihin että pieniin rihmastopahkoihin siten, että uutta rihmastoa ei seuranta-ajanjaksona syntynyt. 60 ja 75 °C:n lämpötilat eivät estäneet sienen kas-



Kuva 1. Rihmastopakkojen säteittäiskasvu 14 vuorokauden aikana 10, 20 ja 30 sekuntia kestäneen 30 (A), 45 (B), 60 (C), 75 (D), 80 (E) ja 85 °C:n (F) kuumavesikäsitellyn jälkeen. Pylväät kuvaavat yksisuuntaista keskiarvon keskiarvohetä.

vua kokonaan, mutta 60 °C:n lämpötila hidasti jo selvästi kasvua. Yksittäisten pakkojen kasvussa oli myös suurta vaihtelua, kun taas alhaisemmissa lämpötiloissa vaihtelu oli hyvin vähäistä. Käsitely 30 ja 45-asteisessa vedessä ei vaikuttanut rihmaston kasvuun ja rihmasto oli yleensä jo kymmenen vuorokauden kuluttua täyttänyt petrimaljan. Rihmastopakkojen koolla ei ollut vaikutusta lämpötilan sietokykyyn ($p > 0,05$), joten tulokset ovat yhdistetty ja esitetty samassa kuvassa (kuva 1).

3.2 Tuoreen rihmaston kestävyys

Tuore rihmasto kesti kuumakäsittelyä huonommin kuin rihmastopakkat. Jos rihmasto oli käsitelty

75-asteisessa vedessä, ei kasvua ollut lainkaan havaittavissa. Kuudenkymmenen asteen lämpötila vaikutti kasvuunlähtöön hidastavasti siten, että rihmasto kasvavia petrimaljoja oli vähiten 30 sekunnin käsittelyn jälkeen. Rihmaston kasvuunlähtö oli yhtä nopeaa kontrollimaljoilla, 30 °C:ssa ja 45 °C:ssa käsitellyillä rihmastopaloilla käsittelyajasta riippumatta (taulukko 1).

4 Tulosten tarkastelua

Käsittelylämpötilalla on kokeen perusteella vaikutusta *Rhizoctonia* sp. -sienen elinvoimaisuuteen kä-

Taulukko 1. Tuoreen rihmaston kasvuunlähdon frekvenssi kuumavesikäsitelyä seuranneena kahden viikon ajanjaksona eri käsittelyajoilla ja lämpötiloissa.

Lämpötila °C	Käsittelyn kesto, sek.	Kasvuunlähdon frekvenssi				Yht.
		3. vrk	6. vrk	10. vrk	14. vrk	
Kontrolli	0	12	-	-	-	12
30	10	12	-	-	-	12
30	20	12	-	-	-	12
30	30	12	-	-	-	12
45	10	12	-	-	-	12
45	20	12	-	-	-	12
45	30	12	-	-	-	12
60	10	6	3	0	0	9
60	20	2	6	1	0	9
60	30	2	2	0	0	4
75	10	0	0	0	0	0
75	20	0	0	0	0	0
75	30	0	0	0	0	0

sittelyn jälkeen. Tuore rihmasto on rihmastopahkoja herkempää kuumuudelle ja kärsii käsittelystä jo hieman alhaisemmissa lämpötiloissa. Jos upotus oli tehty 60-asteiseen veteen, oli sienirihmaston muodostuminen jo huomattavasti hidastunut. 75-asteisen käsittelyn jälkeen tuoreen rihmaston kasvukyky oli täysin estynyt, mutta osa rihmastopahkoista oli säilyttänyt kasvukykynsä. 80 °C:ssa ja sitä korkeammassa lämpötilassa käsitellyistä rihmastopahkoista ei uutta rihmastoja seuranta-aikana syntynyt. Käsittelyajoilla oli vaikutusta ainoastaan 60–75-asteisen vesikäsitelyn jälkeen. Rihmastopahkojen koolla ei ollut vaikutusta rihmaston kasvuun. Jotta eroja olisi syntynyt, täytyisi rihmastopahkojen kokoeron mahdollisesti olla suurempi. 60–75 °C:n lämpötiloissa rihmastopahkojen kasvun välinen vaihtelu oli suurta, mikä saattaa kuvata kehitysasteen ja kosteuspitoisuuden vaikutusta kuumankestävyyteen ja itämisen nopeuteen.

Desinfiointimenetelmien tehokkuus vaihtelee eri patogeenien välillä (Petersen 1990, 1991). Kuumen veden käytöllä on pystytty tuhoamaan *Pythium*-, *Fusarium*-, *Cylindrocarpon*- ja *Phoma*-sukujen sieniä (Sturrock ja Dennis 1988), jotka ovat olleet yleisiä myös juurilahoisten mäntyjen ja kuusten juurissa (Venn ym. 1989, Lilja ym. 1992). Desin-

fioinnissa käytetyt lämpötilat ja käsittelyjen kestoajat vaihtelevat suuresti. Landis'in (1990) mukaan suurin osa sienitautien aiheuttajista voidaan tuhota altistamalla ne 60–82 °C:n kuumuudelle ainakin 30 minuutin ajaksi. James ja Woollen (1989) puolestaan pitävät jo 3–5 minuutin upotusta 68-asteisessä vedessä riittävänä. Käytännön työn tuottavuuden kannalta on tarkoituksenmukaista pyrkiä mahdollisimman nopeaan käsittelyyn, puhdistumistuloksen siitä kuitenkin heikentymättä.

Rihmastopahkat kestivät upotuksen 75-asteiseen veteen. Myös desinfiointiaineiden tehoa tutkittaessa on sienten rihmastopahkat osoittautuneet hyvin kestäviksi. Koposen ym. (1992) tutkimuksessa esimerkiksi *Rhizoctonia solani* Kühn sienien pahkoihin ei täysin tehonnut mikään kokeilluista valmisteista.

Tutkimusta voidaan arvostella siitä, että mukana oli vain yhden sienilajin isolaatti. Juurilahotauti on useamman sienilajin aiheuttama siten, että yksitumainen *Rhizoctonia* sp. on sienistä patogeenisin. Se kykenee tunkeutumaan terveisiin juuriin ja luo olosuhteet suotuisiksi myös muille, heikommille taudinaiheuttajille. Se on myös ainoa juurilahoisissa taimissa esiintyvä laji, joka muodostaa vaikeasti tuhottavia rihmastopahkoja (Lilja ym. 1992). Geneettisesti yksitumainen *Rhizoctonia* sp. on osoittautunut hyvin yhtenäiseksi lajiksi (Lilja ym. 1996), joten mikäli käsittely tuhoaa yhden isolaatin, se on todennäköisesti tehokas myös muiden isolaattien torjunnassa.

Kirjallisuus

- Beyer-Ericson, L., Damm, E. & Unestam, T. 1991. An overview of root dieback and its causes in Swedish forest nurseries. *European Journal of Forest Pathology* 21: 439–443.
- Hänöja, P. 1969. Taimipoltteen aiheuttajista Metsäntutkimuslaitoksen Punkaharjun koeaseman taimitarhalla. Summary: On damping-off fungi in the nurseries of Forest Research Institute at Punkaharju experimental station. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae* 69(6). 21 s.
- Hietala, A., Sen, R. & Lilja, A. 1994. Anamorphic and telomorphic characteristics of a uninucleate *Rhizoctonia* sp. isolated from roots of nursery grown conifer

- seedlings. *Mycological Research* 98 (9): 1044–1050.
- James, R.L., Dumroese, R.K. & Wenny, D.L. 1988. Occurrence and persistence of *Fusarium* within styroblock and ray leach containers. *Julkaisussa: Proceedings, combined meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1988 August 8–11; Vernon, British Columbia. USDA Forest Service, General Technical Report RM-167. s.145–148.*
- & Woollen, R.L. 1989. An evaluation of root diseases of containerized conifer seedlings at the Champion Timberland Nursery, Plains, Montana. U.S.D.A. Forest Service; Northern Region. *Timber, Cooperative Forestry and Pest Management Report 89-5: 1–8.*
- Koponen, H., Avikainen, H. & Tahvonen, R. 1992. The effect of disinfectants on fungi in pure culture and on different surface materials. *Agricultural Science in Finland* 1: 587–595.
- Landis, T. D. 1990. Disease and pest management strategies. *Julkaisussa: Landis, T.D., Tinus, R.W., McDonald, S.E. & Barnet, J.P. The container tree nursery manual. Volume 5. The biological component: Nursery pests and mycorrhizae. USDA Forest Service, Agriculture Handbook 674, Public Affairs Office, Washington DC. s. 76–84.*
- Lilja, A. 1994. The occurrence and pathogenicity of uni- and binucleate *Rhizoctonia* and *Pythiaceae* fungi among conifer seedlings in Finnish forest nurseries. *European Journal of Forest Pathology* 24: 181–192.
- , Lilja, S., Poteri, M. & Ziren, L. 1992. Conifer seedlings root-fungi and root dieback in Finnish nurseries. *Scandinavian Journal of Forest Research* 7: 547–556.
- , Hietala, A. & Karjalainen, R. 1996. Identification of a uninucleate *Rhizoctonia* sp. by pathogenicity and hyphal anastomosis tests and PCR fingerprinting using RAPD markers. Submitted to *Plant Pathology*.
- Petersen, M. 1990. Sanitation of styroblocks to control algae and seedling root rot fungi. FRDA Report 140.
- 1991. Guidelines for the sanitation of nursery seedling containers. Supplement to FRDA 140.
- Sneh, B., Burpee, L. & Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. *The American Phytopathological Society, St. Paul. 133 s.*
- Sturrock, R.N. & Dennis, J.J. 1988. Styroblock sanitization: results of laboratory assays from trials at several British Columbia forest nurseries. *Julkaisussa: Proceedings, combined meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1988 August 8–11; Vernon, British Columbia. USDA Forest Service, General Technical Report RM-167. s. 149–154.*
- Sutherland, J. R., Shrimpton, G. M. & Sturrock, R. N. 1989. Diseases and insects in British Columbia forests seedling nurseries. FRDA Report 65: 1–29.
- Vaartaja, O. 1967. Damping-off pathogens in South Australian nurseries. *Phytopathology* 57: 765–768.
- & Cram, W.H. 1956. Damping-off of conifers and of *Caragana* in Saskatchewan. *Phytopathology* 46: 505–507.
- Venn, K., Sandvik, M. & Langerud, B. 1986. Nursery routines, growth media and pathogens affect growth and root dieback in Norway spruce seedlings. *Meddelelser fra Norsk Institutt for Skogforskning* 39: 314–328.

18 viitettä